

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 15, 1977, pp. 389–392

Die Differenzierung von VLDL-Subfraktionen in der Diagnostik von Typ III Hyperlipoproteinämien¹⁾

Von K. H. Vogelberg

Klinische Abteilung des Diabetes-Forschungsinstitutes an der Universität Düsseldorf

(Eingegangen am 20. Oktober/16. Dezember 1976)

Zusammenfassung: Hyperlipoproteinämien vom Typ III sind durch „floating“- β -Lipoproteine gekennzeichnet, die lipidelektrophoretisch als VLDL-Subfraktion (β -VLDL) und lipidchemisch durch bestimmte Kriterien der Triglycerid-Cholesterinzusammensetzung des Gesamtserums bzw. der zugehörigen VLDL-Serumfraktion nachweisbar sein können. In der vorliegenden Arbeit wurde die diagnostische Wertigkeit dieser Kriterien mit dem für Typ III Hyperlipoproteinämien als spezifisch angenommenen E III-Peptidverlust der VLDL-Apolipoproteine verglichen. Die Untersuchungen zeigten, daß bei 42 Personen mit einer VLDL Subfraktion 7mal ein Verlust des Peptids nachweisbar war. Bei diesen Personen war der Cholesterin/Triglycerid Quotient des Gesamtserums $0,94 \pm 0,45$ und jener der VLDL-Serumfraktion $0,59 \pm 0,25$. Der Quotient des VLDL-Cholesterin/Serumtriglyceridgehalt war $0,43 \pm 0,21$ und die elektrophoretische Mobilität der VLDL-Subfraktion $0,38 \pm 0,04$. Die Untersuchung des VLDL-Cholesterin/Triglyceridquotienten erbrachte in 4 Fällen (10%), der Quotient aus dem VLDL-Cholesterin/Serumtriglyceridgehalt in 10 Fällen (24%) ein „falsch-positives“ Ergebnis. Dieser Vergleich zeigt, daß die untersuchten Kriterien zur Identifizierung von „floating“- β -Lipoproteinen bzw. einer β -VLDL-Subfraktion nur als indirekte Hinweise einer Typ III Hyperlipoproteinämie bedeutsam sind.

Differentiation of VLDL subfractions in the diagnosis of type III hyperlipoproteinaemias

Summary: Type III hyperlipoproteinaemias are characterized by “floating” β -lipoproteins. In lipid electrophoresis these are present as a VLDL subfraction (β -VLDL). They can also be detected chemically on the basis of the cholesterol/triglyceride ratio of the serum or the corresponding VLDL serum fraction. In the present work, the diagnostic value of these ratios is compared with that of E III peptide loss from VLDL-apolipoproteins, which is thought to be specific for type III hyperlipoproteinaemias. Of 42 persons with a VLDL subfraction, seven showed a loss of the peptide. In these persons, the cholesterol/triglyceride quotient was 0.94 ± 0.45 for the whole serum, and 0.59 ± 0.25 for the serum VLDL fraction. The quotient for VLDL cholesterol/serum triglyceride was 0.43 ± 0.21 , and the electrophoretic mobility of the VLDL subfraction was 0.38 ± 0.04 . Investigation of the VLDL-cholesterol/triglyceride quotient gave four (10%) false positives, while the quotient for VLDL-cholesterol/serum triglyceride gave ten (24%) false positives. This comparison shows that the criteria used for identification of “floating” β -VLDL subfraction are only indirectly useful in the diagnosis of type III hyperlipoproteinaemia.

Einführung

Hyperlipoproteinämien vom Typ III sind durch sog. „floating“- β -Lipoproteine (β -VLDL) gekennzeichnet (1). Das Lipoproteinmuster dieser Fettstoffwechselstörungen kann differentialdiagnostisch durch lipidchemische (2, 3), immunologische (4), Präzipitations- oder Unterscheidungsmerkmale der Ultrazentrifugation (5, 6, 7) von anderen Lipoproteinmustern abgegrenzt werden. Utermann et al.

(8) konnten zeigen, daß „floating“- β -Lipoproteine wahrscheinlich auch durch den Verlust eines E-Peptids (Apolipoprotein E-III) der VLDL²⁾-Apolipoproteine spezifisch nachweisbar sind. Nachfolgend wurde die Wertigkeit lipidchemischer und lipidelektrophoretischer Kriterien einer Typ III Hyperlipoproteinämie anhand dieses Peptid-Verlustes bei 42 Seren mit einer VLDL Subfraktion geprüft.

¹⁾ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft Bad Godesberg (SFB 113, A III-9).

²⁾ Abkürzungen: VLDL = „very low density lipoproteins“
LDL = „low density lipoproteins“
HDL = „high density lipoproteins“

Patienten und Untersuchungsmethoden

Zur Differenzierung verschiedener VLDL-Subfraktionen wurden nacheinander 442 Seren von 217 Personen untersucht. Bei den Personen handelte es sich um stationär und/oder ambulant behandelte Patienten der Klinischen Abteilung des Diabetes-Forschungsinstituts Düsseldorf. Die Auswahl der Patienten richtete sich nach Vorhandensein und Qualität der Lipid-Elektrophorese und der Vollständigkeit zugehöriger Lipidbestimmungen im Nativserum bzw. definierten Serum-Lipoproteinfraktionen der präparativen Ultrazentrifugation (s. u.). Patienten unter 19 Jahren wurden von der Studie ausgeschlossen, ebenso Seren, deren Triglycerid- und Cholesteringehalt „normal“ war. Als obere Normgrenze galt eine Triglyceridkonzentration von 0,17 mmol/l und eine Cholesterinkonzentration von 6,73 mmol/l Serum. Die angewandten Labormethoden wurden bereits früher beschrieben (9). Als Kriterium einer VLDL Subfraktion galt der elektrophoretische Nachweis einer VLDL-Doppelbande. Die VLDL-Apolipoproteinanalyse wurde von Dr. G. Utermann (Institut für Humangenetik, Universität Marburg) durchgeführt. Statistische Signifikanzberechnungen erfolgten im t-Test.

Ergebnisse

Vorkommen

Von den untersuchten 217 Personen wiesen 68 (31%) lipidelektrophoretisch eine VLDL-Subfraktion auf. Es handelte sich um 41 Männer und 27 Frauen im Durchschnittsalter von 47 ± 13 Jahren (23–64 Jahren) bzw. 53 ± 11 Jahren (31–59 Jahren) (Tab. 1). Das Kontrollkollektiv wurde aus der restlichen Personengruppe entsprechend der Verteilung von Alter, Geschlecht, Körpergewicht und Glucosetoleranz des Patientenkollektivs ausgesucht. Die Lipidbestimmung der Serumlipoproteinfraktionen ergab, daß in Seren mit einer VLDL-Subfraktion die Cholesterinkonzentration in VLDL bzw. die Triglyceridkonzentration in LDL und HDL z. T. signifikant größer war als im Kontrollkollektiv.

Differentialdiagnose

VLDL-Subfraktionen konnten bei unterschiedlichen Lipoproteinmustern beobachtet werden (Abb. 1). Von 42 der untersuchten Seren wiesen in 2–9 Analysen 13 konstant eine VLDL-Subfraktion auf; in 29 Fällen war der Befund inkonstant. Die Konzentration bzw. Breite der Subfraktion war individuell variabel. Die elektrophoretische Mobilität schwankte zwischen 0,34 und 0,65 (bezogen auf die anodenwärts gelegene α -Lipoproteinbande).

Aufgrund von Literaturangaben wurde eine Hyperlipoproteinämie Typ III angenommen, wenn der VLDL-Cholesterin/VLDL-Triglycerid Quotient größer als 0,42 (10) und/oder der VLDL-Cholesterin/Serumtriglycerid Quotient größer als 0,30 (11) war. Die VLDL-Apolipoproteinanalyse ergab, daß bei 7 Seren mit einer VLDL-Subfraktion (16,7%) ein Verlust des E-III Apolipoprotein-Peptids vorlag. Der VLDL-Cholesterin/VLDL-Triglycerid Quotient stimmte in 4 (9,5%) und der Quotient aus dem VLDL-Cholesterin/Serumtriglyceridgehalt in 10 Fällen (23,8%) nicht mit dem Ergebnis der Apoproteinanalyse überein. „Falsch negative“ Ergebnisse der lipidchemischen Untersuchungen wurden nicht beobachtet.

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß Subfraktionen der VLDL-Lipoproteine keineswegs immer als „floating“ β -Lipoproteine bzw. β -VLDL anzusprechen sind. Der elektrophoretische Nachweis einer VLDL-Subfraktion und die untersuchten lipidchemischen Kriterien einer Typ III Hyperlipoproteinämie sind nur als indirekte

Tab. 1. Anzahl, Alter, relatives Körpergewicht (Broca-Index), orale Glucosetoleranz und bestimmte Lipidkonzentrationen bei Seren mit (n = 68) bzw. ohne (n = 68) lipidelektrophoretischen Nachweis einer VLDL-Subfraktion.

| | mit VLDL-Subfraktion | | ohne VLDL-Subfraktion | |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|
| | weiblich | männlich | weiblich | männlich |
| Anzahl | 27 | 41 | 22 | 46 |
| Alter* (Jahre) | 53 ± 11 | 47 ± 13 | 58 ± 12 | 47 ± 10 |
| Broca – Index (%) | 118 ± 15 | 106 ± 10 | 116 ± 13 | 102 ± 9 |
| Orale Glucosetoleranz | | | | |
| normal | 6 | 21 | 5 | 26 |
| subklin. Diabetes | 7 | 12 | 2 | 7 |
| manifestes Diabetes | 14 | 8 | 15 | 13 |
| Lipide** | | | | |
| Serumcholesterin | $8,47 \pm 3,11$ | $7,85 \pm 2,49$ | $7,85 \pm 2,72$ | $6,89 \pm 2,12$ |
| Serumtriglycerid | $4,22 \pm 3,37$ | $3,49 \pm 2,63$ | $3,55 \pm 2,17$ | $3,93 \pm 2,91$ |
| VLDL-Cholesterin | $2,56 \pm 2,79^*$ | $2,23 \pm 2,38^{**}$ | $1,19 \pm 0,73$ | $0,83 \pm 2,09$ |
| VLDL-Triglycerid | $2,99 \pm 3,06$ | $2,55 \pm 1,95$ | $2,91 \pm 2,18$ | $3,21 \pm 2,77$ |
| LDL-Cholesterin | $4,69 \pm 1,01$ | $4,22 \pm 1,39^{**}$ | $5,10 \pm 1,27$ | $4,99 \pm 1,06$ |
| LDL-Triglycerid | $0,90 \pm 0,56^{***}$ | $0,64 \pm 0,22$ | $0,41 \pm 0,18$ | $0,56 \pm 0,36$ |
| HDL-Cholesterin | $1,22 \pm 0,26$ | $1,39 \pm 0,39^{***}$ | $1,55 \pm 0,93$ | $1,06 \pm 0,23$ |
| HDL-Triglycerid | $0,32 \pm 0,09^{**}$ | $0,29 \pm 0,08^{***}$ | $0,23 \pm 0,09$ | $0,16 \pm 0,17$ |

*) $\bar{x} \pm s$

**) Angegeben in mmol/l \pm Standardabweichung

*) $p < 0,025$

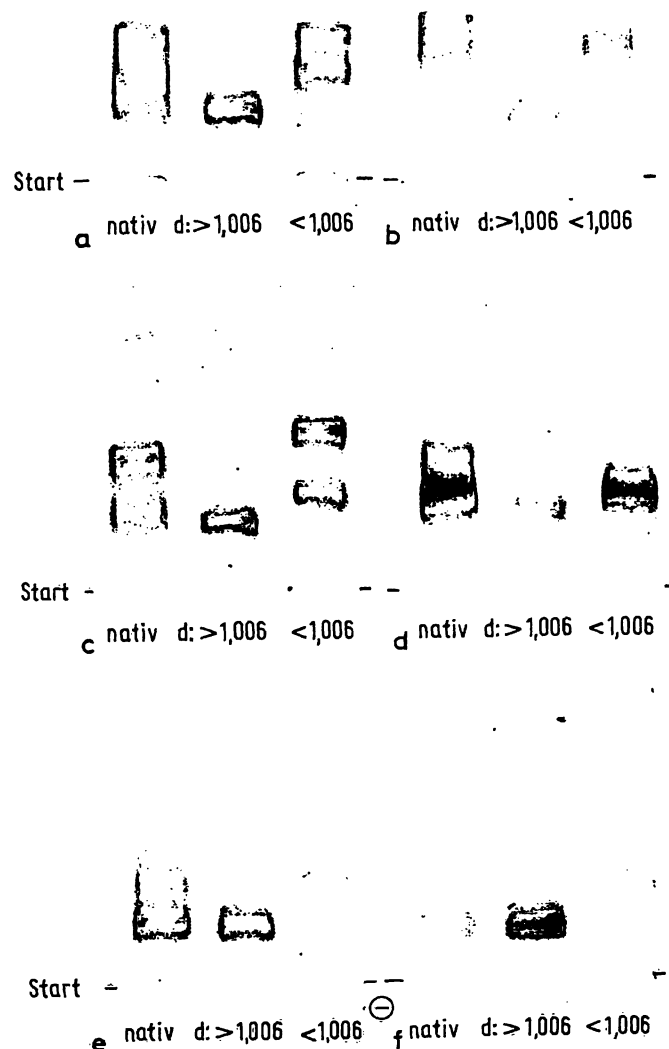
**) $p < 0,0025$

***) $p < 0,00025$

Abb. 1. VLDL-Subfraktionen bei verschiedenen Hyperlipoproteinämie-mustern der Agarosegel-Lipidelektrophorese. Aufgetragen wurde jeweils das Nativserum und die Ultrazentrifugen-Serumfraktion mit einer Dichte $d < 1,006$ bzw. $d > 1,006$. Die Mobilität ist auf die α -Lipoproteinbande (= 1,0) bezogen. Triglycerid-(TG) und Cholesterinkonzentration (CH) in mmol/l:

| | nativ | | VLDL | | LDL | | HDL | | |
|----|-------|-------|------|------|------|------|------|------|-----------|
| | TG | CH | TG | CH | TG | CH | TG | CH | Mobilität |
| a) | 4,67 | 9,97 | 2,98 | 3,81 | 1,11 | 4,99 | 0,59 | 1,17 | 0,42 |
| b) | 5,13 | 8,81 | 2,77 | 3,49 | 1,41 | 4,17 | 0,94 | 1,34 | 0,53 |
| c) | 3,98 | 8,55 | 2,82 | 5,34 | 0,67 | 2,31 | 0,48 | 0,91 | 0,37 |
| d) | 6,91 | 13,00 | 5,14 | 8,13 | 1,17 | 3,52 | 0,48 | 1,35 | 0,35 |
| e) | 2,58 | 7,33 | 0,64 | 1,22 | 1,33 | 5,65 | 0,60 | 0,47 | 0,43 |
| f) | 2,14 | 7,67 | 0,91 | 0,88 | 0,74 | 5,69 | 0,38 | 1,09 | 0,47 |

⊕



Literaturverzeichnis

1. Beaumont, J. L., Carlson, L., Cooper, R. G., Fejfar, Z., Fredrickson, D. & Strasser, T. (1970), Bull. WHO 43, 891-915.
2. Mishkel, M. A., Nazir, D. J. & Crwother, S. (1975), Clin. Chem. Acta 58, 121-136.

Tab. 2. Mittelwerte lipidchemischer Untersuchungskriterien (s. Text) und der elektrophoretischen Mobilität (α -Lipoproteinbande = 1,0) von VLDL-Subfraktionen aus Seren ($n = 106$) von 42 untersuchten Patienten mit ($n = 35$) bzw. ohne ($n = 7$) E-III Peptid der VLDL-Apolipoproteine. TG = Triglyceride, CH = Cholesterin.

| VLDL-Subfraktion | Serum-CH | VLDL-CH | VLDL-CH | VLDL-CH | Mobilität |
|-----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Serum-TG | Serum-TG | Serum-CH | VLDL-TG | |
| ohne Apo-E-III-Peptid | 0,943 ± 0,449 | 0,425 ± 0,209 | 0,484 ± 0,133 | 0,594 ± 0,250 | 0,382 ± 0,044 |
| mit Apo-E-III-Peptid | 1,267 ± 0,733 | 0,237 ± 0,127 | 0,245 ± 0,164 | 0,353 ± 0,199 | 0,485 ± 0,065 |
| t = | 1,805 | 5,222 | 5,978 | 4,550 | 7,355 |
| p < | 0,05 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 |

Zeichen diagnostisch bedeutsam. Versuche, ihre diagnostische Bedeutung durch verbesserte Bestimmungsmethoden zu vergrößern (3, 12), werden leicht überbewertet. Da „Ausnahmen“ der zugrunde liegenden Normierung nicht auszuschließen sind, sollte die Diagnose zumindest von mehreren indirekten Kriterien abhängig gemacht werden.

Die spezifische Bedeutung für das Vorkommen verschiedener VLDL-Subfraktionen ist unbekannt. Havel et al. (13) grenzten ein „slow“ prä- β -VLDL von β -VLDL ab. Nach Meinung der Autoren kann diese Subfraktion als „intermediate density lipoprotein“ in normo- wie hyperlipämischen Seren vorkommen. Carlson & Carlson (14) fanden bei 25-30% von 609 untersuchten Seren eine VLDL-Subfraktion, die aufgrund einer größeren elektrophoretischen Mobilität von β -VLDL zu unterscheiden war. Sie bezeichneten die Subfraktion als „late migrating“ prä- β -Lipoprotein, zeigten jedoch, daß der VLDL-Cholesterin/VLDL-Triglycerid Quotient dieser Seren wie bei Typ III Hyperlipoproteinämien erhöht ist und daß außerdem der Triglyceridgehalt in LDL und HDL, vergleichbar den vorliegenden Befunden bei diesen Seren mit einer VLDL-Subfraktion größer ist als bei Kontrollen ohne diese Fraktion. Hyperlipoproteinämien mit prä- β -VLDL-Subfraktionen könnten deshalb verwandte Formen einer heterozygot vererbten Typ III Hyperlipoproteinämie darstellen.

Danksagung

Frau Barbara Heger sei an dieser Stelle für ihre wertvolle technische Mitarbeit Dank gesagt.

3. Vessby, B. (1976), Clin. Chem. Acta 69, 29-42.
4. Seidel, D. & Greten, H. (1970), Clin. Chem. Acta 30, 31-36.
5. Wieland, H. & Seidel, D. (1973), Clin. Chem. 19, 1139-1141.

6. Quarfordt, S., Levy, R. & Fredrickson, D. S. (1971), *J. Clin. Invest.* 50, 754–761.
7. Patsch, J. R., Sailer, S. & Braunsteiner, H. (1975), *Europ. J. Clin. Invest.* 5, 45–55.
8. Utermann, G., Jaeschke, M. & Menzel, J. (1976), *FEBS Letters* 56, 352–355.
9. Vogelberg, K. H., Utermann, G. & Gries, F. A. (1973), *dieses J.* 11, 291–296.
10. Hazzard, W. R., Porte Jr., D. & Biermann, E. L. (1973), *Metabolism* 21, 1009–1019.
11. Fredrickson, D. S., Morganroth, J. & Lévy, R. (1975), *Ann. Intern. Med.* 82, 150–157.
12. Albers, J. J., Russel Warnick, G., Hazzard, W. R. (1977), *Clin. Chim. Acta* 75, 193–204.
13. Havel, R. J., Kane, J. P. & Pagan, A. (1976), in: *Lipoprotein metabolism* (H. Greten, 4., ed.), Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, S. 65–68.
14. Carlson, K. & Carlson, L. A. (1975), *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 35, 655–660.

PD Dr. Karl Heinrich Vogelberg
Auf'm Hennekamp 65
Diabetes-Forschungsinstitut
an der Universität
D-4000 Düsseldorf 1